

## CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/05)

En el presente control se envió a los participantes un tubo con plasma en el que el laboratorio de referencia detectó la presencia del DNA de citomegalovirus (CMV) mediante la realización de una PCR *real-time*. La muestra se acompañaba de una historia clínica que correspondía a un paciente varón de 32 años de edad, sometido a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH) por padecer una leucemia mieloide crónica. A los 3 meses de la intervención, el paciente desarrolló un cuadro de tos no productiva, fiebre de 38°C, disnea importante y deterioro del estado general. En la radiografía simple de tórax se observaron infiltrados bilaterales intersticiales, todo ello compatible con un diagnóstico de neumonitis intersticial. Se tomaron muestras de secreciones respiratorias que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología para estudio bacteriológico, fúngico, vírico y de micobacterias, iniciándose un tratamiento antibiótico de forma empírica. Los cultivos bacteriológicos, la tinción con blanco de calcofluor y las baciloscopias resultaron negativos. También se remitió sangre total para la realización de la prueba de antigenemia pp65 de CMV y plasma para la detección de DNA del mismo virus.

Se solicitó a los participantes que procesaran el plasma y realizaran la detección de DNA de CMV, así como la formulación de los comentarios que considerasen oportunos.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE DNA DE CMV

El plasma problema fue enviado a 72 laboratorios de los cuales 49 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 70,0%, similar al de otros controles. Se aceptaron como válidas para el análisis de los resultados las respuestas que realizaron la detección cualitativa o cuantitativa del DNA de CMV. El número total de hojas de respuesta analizadas fue de 44. Así pues, fueron cinco los laboratorios que no realizaron dicha prueba por no disponer de ella y, aunque uno de ellos remitió la muestra a su laboratorio de referencia, no informó del resultado. De este modo, el porcentaje real de participación en este control fue del 61,1%. Se analizaron un total de 47 resultados, ya que tres laboratorios llevaron a cabo dos pruebas distintas (cualitativa y cuantitativa). En todas las ocasiones la detección resultó positiva (100,0%). Además, la mayoría de los participantes que realizaron una técnica cuantitativa informaron del número de copias de DNA de CMV presentes en la muestra, aunque este aspecto no se analiza en el presente control, ya que tras la liofilización existe variabilidad de unos viales a otros en el número de copias.

**Tabla 1. Resultados de la detección de DNA de CMV.**

Resultado	Número	% <sup>a</sup>
Positiva	47	100,0
Negativa	0	0,0
Total	47	100,0

<sup>a</sup>Sobre el número total de determinaciones realizadas.

**Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección de CMV.**

Método	Marca	Número	%
PCR <i>nested</i>	Desarrollo propio	1	2,1
	Affigene	2	4,2
	Real	5	10,6
	No informada	1	2,1
PCR-EIA	Herplex (genómica)	9	19,1
PCR	Desarrollo propio	6	12,8
	Cobas-Amplicor	8	17,0
	Innoetics	1	2,1
	Qiagen	1	2,1
	Roche	2	4,2
	No informada	2	4,2
PCR <i>real-time</i>	Desarrollo propio	1	2,1
	Abbott	3	6,4
	Biotech	1	2,1
	MutaREAL Leti	1	2,1
	Sangtec Molecular Diagnostics	1	2,1
Total		47	100,0

La PCR fue el método más usado y, dentro de este grupo, una técnica de PCR-EIA (Herplex, genómica), informada por el 19,1%. Le siguen en frecuencia la PCR cuantitativa mediante Cobas-Amplicor (17,0%) y las PCR de desarrollo propio. Por último, la marca Real fue la más usada por los participantes que informaron una *nested* PCR (10,6%) y, cuando se realizó una PCR *real time* la más utilizada fue Abbott (6,4%). El resto de los resultados se especifican en la tabla 2.

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la detección del DNA de CMV por parte de los laboratorios que remitieron hoja de respuesta (49), obtenemos los siguientes datos: 42 (85,7%) dicen no utilizarlo, cuatro lo hacen (8,2%) y tres (6,1%) no ofrecen información acerca de este dato.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron sólo 14 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún tipo de comentario. Como en otras ocasiones, no fueron muy extensos, pero hubo que sintetizar alguno por parte del Programa de Control de Calidad. El comentario más frecuentemente realizado por los participantes se refiere a que el número de copias de DNA de CMV presente en la muestra se encontraba en el límite superior de la detectabilidad de la técnica usada (21,4% de los participantes que hacen algún comentario), y uno de ellos afirma haber diluido la muestra. Otros tres participantes comentaron que se trataba de un posible cuadro de neumonitis por CMV y dos más que sería conveniente iniciar, de forma urgente, un tratamiento con ganciclovir. El resto de los comentarios fueron realizados sólo por un participante y se detallan en la tabla 3.

**Tabla 3. Comentarios microbiológicos realizados por los participantes.**

<b>Comentario</b>	<b>Número</b>	<b>%<sup>a</sup></b>
Nº copias en límite superior detectabilidad de la técnica usada	3	21,4
Se trata de una posible neumonitis por CMV	3	21,4
Iniciar tratamiento urgente con ganciclovir vía parenteral	2	14,3
Diagnóstico certeza neumonitis CMV mediante PCR en LBA	1	7,1
Valorar el resultado de PCR junto al de la antigenemia	1	7,1
Hacemos el seguimiento de trasplantados por antigenemia pp65	1	7,1
Lo deseable es cuantificar el DNA de CMV	1	7,1
Para la monitorización del paciente hacer PCR cuantitativa	1	7,1
La extracción con bolas magnéticas es mejor	1	7,1
Total comentarios	14	100,0

<sup>a</sup>Sobre las 14 hojas con comentarios.